Aus der Universitäts-Kinderklinik zu Breslau
(Direktor Professor Dr. Stolte)

Über Blutbildveränderungen gesunder Kinder durch die Keuchhusten-vaccination, zugleich ein Beitrag zur Antikörperbildung

---

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Hohen Medizinischen Fakultät der Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Breslau

vorgelegt von

Magda Bochenek

Breslau 1940

Dissertationsdruckerei R. Nischkowsky (v. Heydebrand)

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Breslau

Referent: Prof. Dr. Stolte

Dekan: Prof .Dr. Gottron

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern

Um weitere Aufschlüsse zu bekommen über die Wirksamkeit einer spezifischen Therapie und Prophylaxe beim Keuchhusten, wurden die in der Folge geschilderten Untersuchungen unternommen.

Es ist bekannt, daß bei Keuchhusten-Kranken im Verlauf der Krankheit als Ausdruck einer aktiven Immunität Antikörper im Blut auftreten, die durch die Komplementbindungsreaktion nachgewiesen werden können.

Erstmalig angewandt wurde diese Reaktion auf Keuchhustenbazillen von Bordet und Gengou selbst bereits im Jahre 1906 und 1907. In den folgenden Jahren beschäftigten sich viele Forscher mit dieser Frage. Aufschluß darüber geben uns in neuerer Zeit vor allem Arbeiten von W. Keller, sowie gemeinsame Untersuchungen von M. Gundel, W. Keller und W. Schlüter. Danach ist erwiesen, daß mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion im Verlauf der Keuchhustenerkrankung schon vor Beginn der spezifischen Hustenanfälle, etwa in der 2.—3. Woche nach der Infektion, Antikörper nachgewiesen werden, die für Keuchhusten spezifisch sind. Unspezifische Reaktionen, wie sie von anderen Autoren beobachtet wurden (Kairis und Goetze) ließen sich durch ein von M. Gundel und W. Schlüter angegebenes Keuchhusten-Antigen, sowie durch die von obigen Autoren ausgearbeitete Methodik ausschließen. Negative Ergebnisse bei keuchhustenkranken Kindern wurden beobachtet bei Säuglingen in den ersten 6 Lebensmonaten, bei denen ein Fehlen der Antikörperbildung häufig beobachtet wird, sowie bei schwersten Komplikationen, wie Bronchopneumonien mit letalem Ausgang; schließlich bei einem Serum, welches Eigenhemmung aufwies.

Die Brauchbarkeit der Komplementbindungsreaktion für diagnostische Zwecke führte dazu, auch experimentell das Auftreten von Antikörpern nach Vaccination mit Keuchhustenvaccine bei Keuchhustenkranken und Gesunden mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion zu verfolgen. Wie dies von W. Keller angeführt wird, haben schon vor ihm Kristensen und Larsen, Kairis und Goetze, Bayer, sowie Gundel, Keller und Schlüter zum Teil mit anderen Methoden die Antikörperbildung nach Vaccination nachgewiesen. Kairis und Goetze impften I. G. Farben Vaccine in der angegebenen Weise in zweitägigen

Abständen subcutan in steigender Keimzahl 4000, 6000, 8000 Mill. Keime und beobachteten vom ersten Lebensjahr an in allen Fällen einen positiven Ausfall der Komplementbindungsreaktion vom 8. Tage an. Die höchsten Titerwerte lagen zwischen dem 10. und 25. Tage.

Die Untersuchungen W. Kellers wurden bei gesunden Kindern durchgeführt, diese wurden zum Teil mit monovalenten, zum Teil mit polyvalenten Vaccinen i. m. geimpft, bei immer gleicher Keimzahl (4000, 6000, 8000 Mill. Keime). Festgestellt wurde danach eine verschieden starke Antikörperbildung der einzelnen Vaccinen, die abhängig war von der Dosierung und Herstellungsart der Vaccine. Schlechte oder überhaupt ausbleibende Antikörperbildung wurde nach Ausschließen anderer Ursachen zurückgeführt auf eine „konstitutionelle Unfähigkeit zur Bildung frei im Blute kreisender Antikörper". Auch die Untersuchung der Frage der Antikörperbildung im Säuglingsalter ergab, daß schon vor dem sechsten Lebensmonat bei geeigneter, wirksamer Vaccination mit großer Regelmäßigkeit Antikörper auftreten, die bei spontaner Infektion oft fehlen.

Unter den im Handel befindlichen polyvalenten Vaccinen wurde auch das in den später folgenden Versuchen angewandte Petein als wirksame Vaccine für die Antikörperbildung geschildert.

Die höchsten Titerwerte nach Vaccination wurden auch bei den Untersuchungen W. Kellers etwa zwischen dem 10.—14. Tag nach der ersten Vaccination beobachtet. Das Absinken des Titers erfolgte rascher als nach spontaner Infektion.

Den Wert dieser Vaccinationswirkung für Heilung und Verlauf später auftretender Keuchhustenerkrankungen kann man nicht allein nach den Mitteilungen über klinische Beobachtungen beurteilen. Erfolge und Mißerfolge der prophylaktischen Vaccination sind bekannt und Erfahrungen darüber vielfach beschrieben. So bezeichnete Bayer die Vaccination nur als eine heilpädagogische Maßnahme, die den gleichen Erfolg habe, wie eine Aqua dest. Injektion.

Theoretische Untersuchungen sind aber weit eher geeignet die noch unklaren Beziehungen zwischen Antikörperbildung und Immunitätslage des Körpers zu klären. W. Keller sieht die Antikörperbildung als „Symptom eines sich abspielenden Immunisierungsprozesses" an, ohne daß dabei die Höhe des Antikörpertiters nach Vaccination maßgebend sei für die Verlaufsform der Erkrankung. Nur bei spontaner Infektion wurde von ihm gesehen, daß bei guter Antikörperbildung im allgemeinen ein rascher, komplikationsloser Verlauf zu beobachten ist. Man

kann daraus schließen, daß die Antikörperbildung nach spontaner Infektion und nach Vaccination beide Male einen Immunisierungsprozeß anzeigt, der aber bei prophylaktischer Vaccination in vielen Fällen nicht ausreichend ist, die Erkankung zu verhindern, da sich über den Immunitätsgrad nichts aussagen läßt.

Die auf Grund der Antikörperbildung zur Diagnosestellung des Keuchhustens angewandte Komplementbindungsreaktion ist nicht die einzige Möglichkeit, eine Erkrankung festzustellen.

Seit den Untersuchungen von Fröhlich im Jahre 1887 ist es bekannt, daß beim Keuchhusten spezifische Veränderungen des Blutbildes auftreten im Sinne einer lymphatischen Reaktion. Die typischen Veränderungen des Blutbildes beim Keuchhusten wurden später unter anderem von Ziegler, Faßbender und Inaba beschrieben und haben allgemeine Gültigkeit erlangt. Es ist danach bekannt, daß schon im katarrhalischen Stadium in den meisten Fällen eine Hyperleukocytose zugleich mit einer absoluten Lymphocytose auftritt, die auch während des konvulsiven Stadiums weiter besteht und nach Ziegler erst verschwindet beim Übergang vom infektiös-toxischen in das psychogen-neurotische Stadium; oder nach Ansicht Camerers so lange, als Keuchhustenbazillen im Körper anwesend sind und deren Produkte in das Blut gelangen. In letzter Zeit stellte Inaba auf Grund eingehender Versuche fest, daß besonderer Wert zu legen sei auf die absoluten Werte der Lymphocyten, die den tatsächlichen Ablauf eindeutiger widerspiegeln, als die Leucocyten und prozentualen Werte der Lymphocyten.

Durch Blutbilduntersuchungen bei gesunden Kindern stellte er nochmals Werte auf, die mit den früheren Angaben von Ziegler und Faßbender im wesentlichen übereinstimmen. Die maximalen Normalwerte der Leukocyten liegen danach bei Säuglingen und Kindern bei 12 000, während die Lymphocyten 50 bis 60 % betragen und im absoluten Wert 10 000 auch bei Säuglingen nicht überschreiten. Lymphocytenwerte über 10 000 können demnach für die Keuchhustendiagnose verwandt werden Die beim Keuchhusten auftretenden Blutbildveränderungen sind nach Inaba der Ausdruck der biologischen Reaktion des Körpers auf die Infektion mit Bordet-Gengou Bazillen.

Diese als allgemein gültig anerkannte Tatsache der typischen Blutbildveränderungen bei keuchhustenkranken Kindern führte mich nun dazu, zu untersuchen, ob auch bei gesunden Kindern im Anschluß an die übliche Vaccination Blutbildveränderungen auftreten, die mit dem Keuchhustenblutbild übereinstimmen, und die eventuell Aufschlüsse geben über die Unsicher-

heit des Vaccinationserfolges und die Wirkung der Vaccination überhaupt. Zugleich wurde auch die Komplementbindungsreaktion angestellt, um etwaige Unterschiede der Blutbildveränderungen zu finden bei solchen Kindern mit positiver Komplementbindungsreaktion und negativer Komplementbindungsreaktion.

Nach Durchsicht der Literatur habe ich bisher keine Angaben gefunden über laufende Blutbilduntersuchungen beim Menschen im Anschluß an die Vaccination mit Keuchhusten Vaccine. Dagegen berichtet Tuta über experimentelle Untersuchungen bei Kaninchen, denen er Aufschwemmungen von lebenden und toten Keuchhustenbazillen i. v. injizierte. Er fand 24 Std. nach der Injektion wie beim Keuchhustenblutbild des Menschen eine Leukocytose und absolute Lymphocytose des Blutes. Camerer berichtet ebenfalls über Auftreten des spezifischen Keuchhustenblutbildes nach i. v. Injektion von lipoidfreien, endotoxinhaltigen Keuchhustenbazillen bei Katzen, und er bezeichnet die vom 2.—3. Tag ab auftrtende Hyperlymphocytose als einen spezifisch toxischen Vorgang. Die Durchführung ähnlich aufgebauter Versuche, vor allem die intravenöse Injektion großer Mengen toxinhaltiger Bazillenaufschwemmungen verbietet sich bei Untersuchungen am Menschen von selbst, zumal auch Camerer in seinen Versuchen nach Injektion von Endotoxin mehrere Fälle von Encephalitis bei Katzen beobachtete. Deshalb lassen sich nur bedingt Parallelen ziehen zwischen den Tierexperimenten und den hier geschilderten Untersuchungen.

Eigene Untersuchungen.

Zur Untersuchung kamen 22 gesunde Kinder verschiedenen Lebensalters, die nachweislich noch nicht an Keuchhusten erkrankt waren. Sie wurden alle in der gleichen Weise 3 mal mit der Vaccine Petein vacciniert an fünf aufeinander folgenden Tagen in zweitägigen Abständen. Am 1. Tag 4000, am 3. Tag 6000 und am 5. Tag 8000 Mill. Keime i. m. Bei einigen Kindern, die vorher alle normalen Temperaturwerte zeigten, traten während der Vaccination Temperaturen bis zu 39° auf, ohne das Allgemeinbefinden zu stören. Die laufenden Blutbildkontrollen erfolgten am Tag der 1. Vaccination unmittelbar vor der Injektion morgens 8 Uhr nüchtern und ein 2. Mal 3—4 Stunden nach der Vaccination, sowie einmal um 8 Uhr morgens an den Tagen des Intervalles. Die letzte Blutentnahme wurde am 14. Tage nach der 1. Vaccination vorgenommen. Am gleichen Tage wurde Blut zur Komplementbindungsreaktion entnommen.

Die Leukozyten wurden in der Zeiß-Thomaschen Zählkammer ausgezählt, das gesamte Differential-Blutbild nach Färbung ausgezählt und sodann der Kernverschiebungsindex sowie die absoluten Lymphocytenwerte errechnet. Die gesamten Werte wurden zunächst graphisch dargestellt nach dem Muster der Schillingschen Leukocytenkurven. Da die graphische Darstellung der Neutrophilen und der Kernverschiebung keine eindeutigen Ergebnisse zeitigte und zudem die Klarheit der Kurven darunter litt, wurden später nur die Werte der Leukocyten, der prozentualen Lymphocyten und der absoluten Lymphocyten kurvenmäßig dargestellt.

Die Blutentnahme zur Komplementbindungsreaktion wurde auf den 14. Tag nach der 1. Vaccination gelegt, da zu diesem Zeitpunkt nach den vorher geschilderten Untersuchungen übereinstimmend die höchsten Titerwerte zu erwarten waren. Die Komplementbindungsreaktion wurde durchgeführt nach den Anweisungen von M. Gundel, W. Keller und W. Schlüter. Als Keuchhustenantigen wurde mir freundlicherweise das von den Behring-Werken in Marburg nach den Angaben von Gundel und Schlüter hergestellte Keuchhustenantigen zur Verfügung gestellt.

Das Antigen wurde zum Gebrauch mit der 4-fachen Menge 0,85 % Kochsalzlösung verdünnt.

Die Patientensera wurden eine halbe Stunde bei 56 ° im Wasserbad inaktiviert.

Versuchsanordnung.

Die Versuchsanordnung des Komplementbindungsverfahren ist eine quantitative unter Verwendung fallender Antigenmengen. In einer doppelten Reihe von je 4 Reagenzgläsern werden je 0,1 ccm der Antigensuspension sowie ihrer 2-, 4- und 8-fachen Verdünnungen in 0,85 % NaCl-Lösung in jedes Röhrchen gefüllt. Ein 5. Röhrchen dient als Serumkontrolle und enthält anstelle des Antigens je 0,1 ccm 0,85 % Kochsalzlösung. In jedes der 5 Reagenzgläschen beider Versuchsreihen kommt 0,1 ccm 4-fach verdünnten inaktivierten Patientenserums. In einer doppelten Kontrollreihe (Antigenkontrolle) wird das Patientenserum durch 0,1 ccm NaCl ersetzt. In jedes der Röhrchen kommt nun 0,1 ccm 15-fach verdünntes Komplement.

Die Gemische der einen Reihe werden 1 Stunde bei 37 ° im Brutschrank), die der anderen Reihe 1 Stunde bei 0 ° (schmelzendes Eisbad) digeriert. Sodann erfolgt Zusatz von 0,2 ccm eines gleichteiligen Gemisches von Hammelblutaufschwemmung und Amboceptorverdünnung in jedes Röhrchen beider Versuchs-

reihen. Die Amboceptorverdünnung soll mindestens dem 4-fachen Multiplum der vollständig lösenden Dosis entsprechen.

Für die Bindung bei 0° wurde Eis in kleine Stücke geschlagen und die Röhrchen in Metallständern hineingesetzt. Nach einer Stunde Bindung wurde bei Zimmertemperatur die Hammelblutaufschwemmung und die Amboceptorverdünnung nachgefüllt. Sodann werden beide Versuchsreihen in den Brutschrank gestellt und abgelesen:

1. nach Lösung der Kontrollen.
2. ein zweites Mal nach weiterem ½ std. Brutschrank-Aufenthalt.

Bei einwandfrei positiven Fällen bleibt auch nach der 2. Ablesung eine vollständige Hemmung der Haemolyse erhalten. Als einwandfrei positiv sind solche Sera zu bewerten, die bei der 2. Ablesung mit mindestens einer Antigendosis komplette Hemmung der Haemolyse zeigen.

Als zweifelhaft diejenigen Reaktionen, in denen zwar zunächst vollständige, bei der zweiten Ablesung aber eine geringergradige Haemolysehemmung beobachtet wird. Alle anderen Ergebnisse gelten als negativ. Eventuell auftretende unspezifische Reaktionen fallen bei der 0°-Bindung weg.

Ergebnisse.

Die am 14. Tag nach der Vaccination ausgeführte Komplementbindungsreaktion hatte bei den hier untersuchten Kindern folgende Ergebnisse:

Tabelle I.

Nr.	Name	Alter	Vaccination	K. B. K.	Bemerkungen
1.	M. P.	4 Mon.	Petein	+	gesundes Kind
2.	I. W.	8 Mon.	3 x i. m.	+	geheilte Stomatitis
3.	D. F.	9 „	„	+	Atrophie
4.	C. F.	9 „	„	+	geh. Morbillen
5.	I. W.	10 „	„	+	gesundes Kind
6.	H. V.	11 „	„	+	gesundes Kind
7.	W. L.	12 „	„	+	Rachitis
8.	G. H.	13 „	„	+	gesundes Kind
8.	G. H.	13 „	„	+	„ „
9.	K. P.	13 „	„	+	„ „
10.	D. B.	1½ Jahr	„	+	„ „
11.	H. T.	7 „	„	+	„ „
12.	H. C.	11 „	„	+	„ „
13.	H. H.	11 „	„	+	„ „
14.	W. Z.	13 „	„	+	„ „

Tabelle II.

Nr.	Name	Alter	Vaccination	K. B. K.	Bemerkungen
1.	H. L.	1½ Mon.	Petein 3 x i. m.	—	gesundes Kind
2.	I. K.	2½ „	„	—	Frühgeburt
3.	W. K.	2½ „	„	—	gesundes Kind
4.	C. S.	3½ „	„	—	Frühgeburt
5.	H. K.	4 „	„	—	geh. Phlegmone
6.	I. G.	5½ „	„	—	Lues congenita
7.	C. W.	11 „	„	—	Frühgeburt
8.	H. B.	12 „	„	—	Idiotie, interkurrent Ruhr E

Von 22 vaccinierten Kindern zeigten 14 Kinder eine positive Komplementbindungsreaktion. Das jüngste Kind schon im Alter von 4 Monaten. Bei 8 Kindern war die Komplementbindungsreaktion negativ. Es handelte sich hier meist um Kinder unterhalb des 1. Lebenshalbjahres; die älteren Kinder waren Frühgeburten und körperlich in der Entwicklung zurück, sodaß vielleicht eine verminderte Fähigkeit zur Bildung von Antikörpern vorlag.

Die Resultate sind im wesentlichen eine Bestätigung der Untersuchungen W. Kellers und beweisen, daß auch im Säuglingsalter Antikörperbildung nach geeigneter Vaccination zu beobachten ist.

Das Blutbild zeigte bei allen Kindern eine deutliche Beeinflussung durch die Vaccination. Die Labilität der Leukocytenwerte, wie sie von Schilling für das Säuglingsalter betont wird, war am stärksten und prägte sich besonders aus bei der an den Tagen der Vaccination ausgeführten 2. Blutbilduntersuchung etwa 3—4 Stunden nach der Vaccination und kommt in den Kurven durch plötzlichen Anstieg der Leukocytenwerte zum Ausdruck, die meist an den Tagen des Intervalles wieder abgesunken sind. Diese unmittelbare Reaktion zeigt sich gleichmäßig bei allen Kindern.

Die prozentualen Lymphocyten zeigen nur geringe Schwankungen und im allgemeinen einen leichten Anstieg während der Vaccination. Die absoluten Lymphocytenwerte steigen ebenfalls an, erreichen aber zusammen mit einer Hyperleukocytose nur bei einigen Kindern Werte über 10 000, die im Verlaufe der Kurve aber nicht konstant sind.

Vergleiche zwischen Blutbildern solcher Kinder mit positiver Komplementbindungsreaktion gegenüber den Kindern mit negativer Komplementbindungsreaktion lassen erkennen, daß eindeutige Unterschiede nicht bestehen; vielmehr zeigen alle Blutbildkurven das gleiche Bild, wie die hier angeführten Beispiele in Abb. 1 und 2. Auch 14 Tage nach der Vaccination bei nachgewiesener positiver Antikörperbildung ergibt die letzte Blutbilduntersuchung in keinem Falle das für Keuchhusten charakteristische Blutbild.

Die gelegentlich auftretenden Maximalwerte am Tage der Vaccination sind zusammen mit dem regelmäßigen geringeren Anstieg der Lymphocyten und Leukocyten nicht als unspezifischer Reiz abtun. Es muß vielmehr angenommen werden, daß der Reiz der Vaccination zu schwach ist und vor allen Dingen zu rasch abklingt, um das Blutbild nachhaltig zu verändern. Ein Beweis für diese Behauptung ist auch die von Camerer vertretene Ansicht über die Entstehung des Blutbildes bei spontaner Infektion, die bereits erwähnt wurde.

Die Ergebnisse der in relativ kleinem Ausmaß erfolgten Untersuchungen haben gezeigt, daß die bisher übliche Vaccination zur Bildung von Antikörpern führte, ohne daß längere Zeit nachweisbare Veränderungen des Blutbildes auftreten, wie sie bei Keuchhustenkranken beobachtet werden.

Es wäre zu erwägen, ob durch eine nach anderen Gesichtspunkten hergestellte Vaccine mit länger anhaltender Depotwirkung, etwa nach Art der aktiven Diphtherieschutzimpfung, eine nachhaltige Schutzwirkung zu erzielen wäre, die zu den gewünschten Blutbildveränderungen führen könnte. Daß es überhaupt möglich ist, solche Blutbildveränderungen experimentell herbeizuführen, beweisen die schon erwähnten Versuche Tutas und Camerers. Sie sind aber in der gleichen Weise beim Menschen nicht durchzuführen, ohne nachteilige Folgen befürchten zu müssen.

Eine Prüfung dieser Überlegungen würde auch darüber Aufschluß geben, ob das so häufige Versagen der prophylaktischen Vaccination darauf zurückzuführen ist, daß sie in der bisherigen Anwendung nur ein Teilvorgang ist im Vergleich zu den komplexen immunbiologischen Vorgängen bei spontaner Infektion, welcher zwar zur Bildung eines komplementbindenden Antikörpers führt, durch zu wenig nachhaltige Einwirkung der Toxine aber nicht imstande ist, die Blutbildveränderung zu bewirken.

Das Blutbild in seiner bisherigen Bedeutung für die Diagnosestellung des Keuchhustens könnte dann auch herangezogen werden, um Aufschlüsse über die Wirkung der Vaccination und die Immunitätsvorgänge des Körpers zu geben.

Schrifttum

Bayer, W., Klin. Wschr. 1935, I. 301.
— Med. Klin. 1932, II. 1459.
Bordet-Gengou: Ann. Inst. Pasteur 20 (1906), 21 (1907).
Camerer, W.: Z. Kinderheilk. 60 (1938), 371.
Faßbender: Z. Kinderheilk. 54 (1932), 595.
Fröhlich: Jahrbuch Kinderheilk. 44, 54 (1897).
M. Gundel, W. Keller u. W. Schlüter: Z. Kinderheilk. 57, 89 (1935).
Inaba: Z. Kinderheilk. 56 (1934), 345.
Kairis u. Goetze: Z. Kinderheilk. 55 (1933), 551.
Keller, W.: Monatsschr. Kinderheilk. 68 (1937), 67.
— Z. Kinderheilk. 58 (1936), 23.
— Z. Kinderheilk. 58 (1937), 591.
Schilling: Das Blutbild und seine klinische Verwertung.
Tuta: Fol. haematologic. 57 (1937), 122.
Ziegler: Schweiz. Med. Wschr. 56 (1926).

Nicht arisches Schrifttum:

Klopstock, H. u. Klopstock, E.: Z. Kinderheilk. 55 (1933), 112.

Abb. I.
W.L. 12 Mon.
KBK. positiv

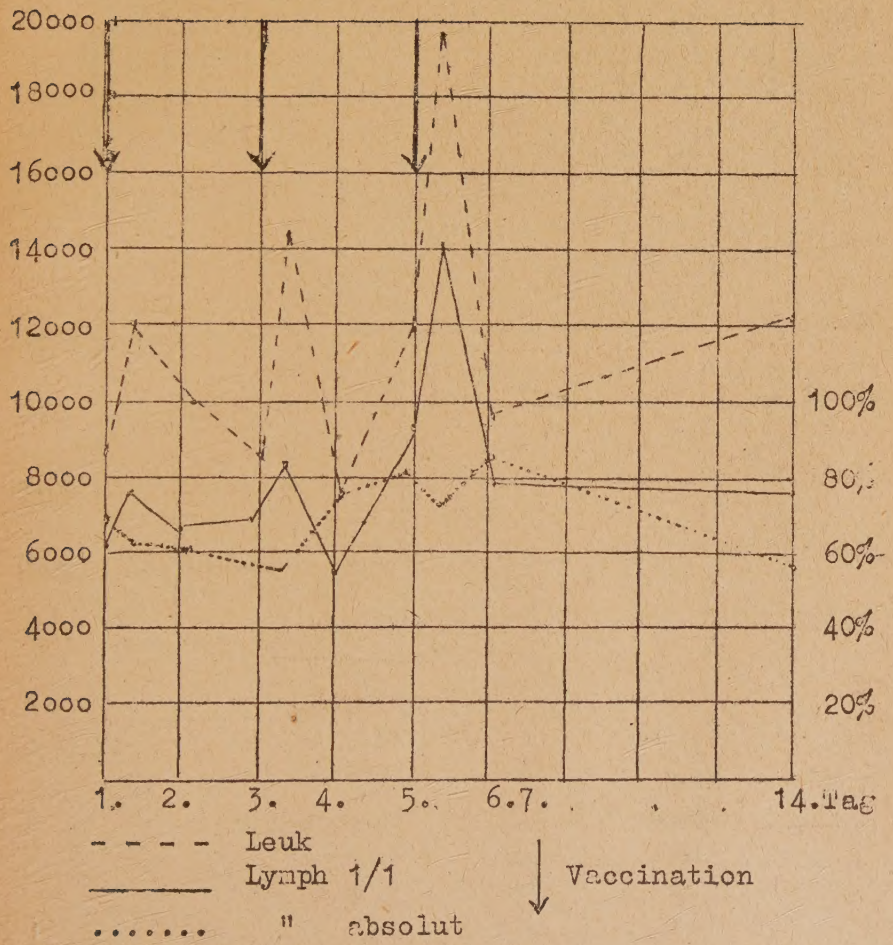
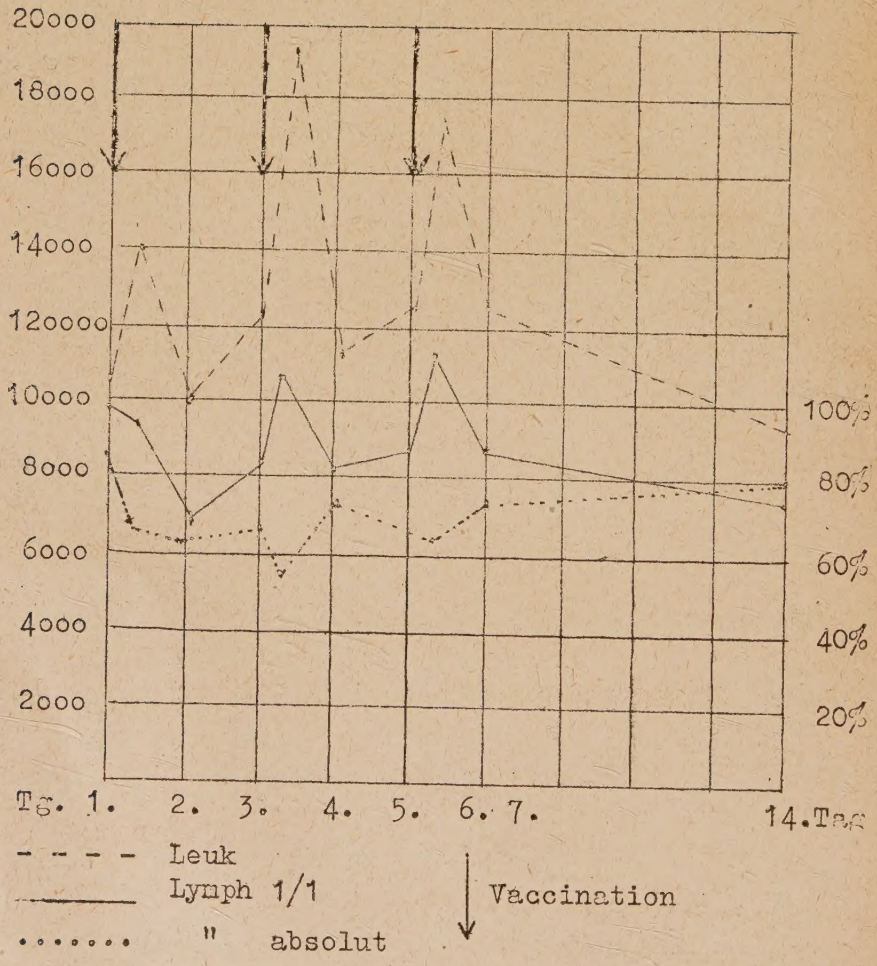


Abb. II
H.L. 2 1/2 Mon.
KDK. negativ



Lebenslauf

Ich, Magda Bochenek, Tochter des Postinspektors Paul Bochenek und seiner Ehefrau Berta, geb. Keller, wurde am 8. Januar 1909 zu Schweidnitz geboren.

Ich besuchte das Städt. Lyceum in Kattowitz und beendete meine Schulzeit mit der Reifeprüfung an der Städt. Cecilienschule in Breslau im Jahre 1929. Ich widmete mich dem Studium der Medizin an den Universitäten Breslau und Wien. Nach 11 Semestern bestand ich an der Universität Breslau am 22. 12. 1934 mein medizinisches Staatsexamen mit sehr gut.

Als Medizinalpraktikantin war ich tätig an der Chirurgischen Universitätsklinik Breslau vom 15. 1. 1935 bis 15. 9. 1935. Im Anschluß daran 4 Monate an der Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses Allerheiligen. Da ich bereits damals die Absicht hatte, mich als Fachärztin für Kinderkrankheiten auszubilden, blieb ich noch ein Jahr als Volontärärztin in derselben Abteilung zu meiner weiteren Ausbildung. Sodann übernahm ich meine heutige Stellung als Assistenzärztin am Städtischen Säuglings- und Kleinkinder-Krankenhaus Breslau.